

Efecto del medio nutriente y temperatura en el cultivo de *Nostoc* del río Caño, Alto Perú, Tacna, en condiciones de laboratorio

Effect of nutrient medium and temperature on the cultivation of Nostoc from the Caño River, Alto Perú, Tacna, under laboratory conditions

Resumen

El *Nostoc* es una microalga con alto contenido proteico que crece de forma natural en las zonas altoandinas; su cultivo en condiciones de laboratorio es necesario para establecer parámetros de producción de su biomasa en laboratorio o en el mismo ambiente natural. En este trabajo el objetivo fue determinar el efecto del medio nutriente y temperatura en el cultivo del *Nostoc* en condiciones de laboratorio. El alga se colectó de las aguas del río Caño, Alto Perú, Tacna y se cultivó en el medio nutriente MACE en placas Petri con luz de fluorescente a temperatura de ambiente (16,4-28,6 °C), hasta que se obtuvo colonias puras para su identificación y obtención de inóculos con un mismo peso, para la experimentación según el diseño factorial experimental 2^k con pruebas centrales, entre agosto y octubre de 2002, en la que se emplearon los medios nutrientes MACE, BBM sin N y BBM, a temperaturas de 18 °C, 24 °C y de ambiente (8,6-24,6 °C), para obtener como respuesta el crecimiento de colonia con base en su peso húmedo. El alga fue identificada como *Nostoc commune*; su cultivo en el medio nutriente MACE, con más baja concentración de sales y a la mayor temperatura de incubación (24 °C), mostró su mayor peso húmedo (0,0579 g) y porcentaje de proteínas totales en peso seco de 25,38. El efecto del medio nutriente sobre el peso húmedo del alga fue mayor que la temperatura.

Palabras clave: *Nostoc commune*, cultivo, medios nutrientes, biomasa, recurso proteico

Abstract

Nostoc is microalgae with high protein content that grows naturally in the high Andean zones; its cultivation under laboratory conditions is necessary to establish production parameters of its biomass in the laboratory or in the same natural environment. In this work, the objective was to determine the effect of the nutrient medium and temperature on the cultivation of *Nostoc* under laboratory conditions. The algae were collected from the waters of the Caño River, Alto Peru, Tacna, and cultivated in MACE nutrient medium in Petri dishes with fluorescent light at room temperature (16.4 - 28.6 °C), until pure colonies were obtained for their identification and to obtain inocula with the same weight, for the experimentation according to the 2^k experimental factorial design with central tests, between August and October in 2002, in which the nutrient media MACE, BBM without N and BBM were used, at temperatures of 18 °C, 24 °C and room temperature (8.6 - 24.6 °C), to obtain as a response the colony growth based on its wet weight. The alga was identified as *Nostoc commune*; its cultivation in the MACE nutrient medium, with the lowest salt concentration and at the highest incubation temperature (24 °C), showed its highest wet weight (0.0579 g) and percentage of total protein in dry weight of 25.38. The effect of nutrient medium on algal wet weight was greater than temperature.

Keywords: *Nostoc commune*, cultivation, nutrient media, biomass, protein resource

Artículo Original

Jenny Karina Córdova Quispe¹
Anacelly Valera López^{2*}
Daladier Castillo Cotrina³

¹Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú.

²Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú.
<https://orcid.org/0000-0002-6667-3043>

³Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú.
<https://orcid.org/0000-0003-0133-5921>

Correspondencia:

*avaleral@unjbg.edu.pe

Recibido: 8/11/2023
Aceptado: 12/12/2023

Introducción

La microalgas constituyen una gran diversidad de grupos microbianos que incluyen las cianobacterias (Farías, 2020) como el *Nostoc* (Aldave, 1989; Abdel et al., 2013) que fija nitrógeno atmosférico, enriquece ambientes pobres de nitrógeno, contribuye con la formación del suelo y aumenta el nitrógeno de los ambientes acuáticos naturales y ecosistemas terrestres (Belnap, 2000). Actualmente puede ser utilizado para atender la necesidad de producción de alimentos especialmente proteicos, mejora de suelos, conservación de los recursos naturales, disminución del costo de fertilizantes nitrogenados, y producción de metabolitos (Aldave, 1995; Abdel et al., 2013; Montoya et al., 2022; Ramos et al., 2022). Está ampliamente distribuida como otras (Montoya et al., 2022) con una composición química que biotecnológicamente es proteína monocelular, por su elevado porcentaje de proteínas. En la parte andina del Perú esta alga es consumida como alimento. Según Aldave (1989) posee 30% de proteínas, índice alto entre los productos naturales, cuyo potencial nutritivo es igual al de la carne y la leche de vacuno, por lo que puede utilizarse para combatir la desnutrición proteica de los pobladores (Acleto, 1973; Aldave, 1995).

El *Nostoc* tiene características moleculares, morfológicas y fisiológicas de procariota con tricomas embebidos en una sustancia mucilaginoso amorfa común denominada vaina que es transparente y abundante en la superficie de la colonia, pero con menor cantidad en su parte interna. Forma colonias macroscópicas con 6-10cm de largo por 4-5cm de ancho con 1,5-2cm de espesor, foliáceos, de consistencia gelatinosa cuando alcanzan el estado adulto (Aldave, 1989). Generalmente, su reproducción es por fisión binaria en un solo plano sin exhibir ramificación verdadera; forma tricomas cortos, flexibles y móviles denominados hormogonios, asimismo, heterocistos que pueden ser intercalares y aquinetos solitarios o en serie a partir de células vegetativas. Los numerosos tricomas que presentan muchas veces entrecruzados forman agregados gelatinosos o colonias esféricas, laminares o amorfas, delimitadas externamente por una membrana semejante a una película con más de 5cm de diámetro. Las características básicas que presenta en su ciclo de vida son la fase hormogónica bien desarrollada o duradera, la fase de heterocistos terminales a partir de células hormogónicas terminales posterior al establecimiento y cese del movimiento, y fase del desarrollo de aquinetos por diferenciación de una etapa intermedia de una célula vegetativa entre dos heterocistos (Dodds et al., 1995;ACLETO, 1998).

En comparación con otras algas resiste condiciones ambientales severas, ya que tolera extensos periodos de desecación en estado latente, siendo resistente a hábitats extremos (Lennihan et al., 1993); sobrevive en hábitat de escasos nutrientes sin demasiadas exigencias nutricionales por su enorme capacidad de adaptación a condiciones ambientales cambiantes (Dodds et al., 1995). Es común encontrarlo en el hábitat terrestre y acuático, en tierras tropicales, en aguas frescas y en el norte y sur de las zonas polares (Dodds et al., 1995).

El cultivo de *Nostoc* en nuestro país, fuera de Tacna, ha sido reportado por Aldave (1989) y Tovar (1996), que muestran el desarrollo del alga con altos contenidos proteicos, de forma natural en lagos dulceacuícolas, que en su mayoría están ubicados en la sierra peruana (Aldave, 1983), donde constituyen alimentos de los pobladores fuente de vitaminas, proteínas y minerales (Aldave, 1971; Cabrera & Montecino, 1987); los factores que influyen en su cultivo son la luz, la temperatura, la dureza de agua, el pH, el potencial redox y los requerimientos nutritivos (CO₂, minerales Fe, Co, Cu, Zn, etc. y vitaminas) (Uribe, 1997); por lo que, el éxito de su cultivo está muy influenciado por la composición química de los medios nutrientes de cultivo que se utilizan y otros factores ambientales (Pei-Pei, 2017). En la naturaleza, el alga necesita tomar del suelo cantidades importantes de macronutrientes (sales de N, K, Ca, P, Mg y S) y micronutrientes (sales de Fe, Mn, Zn, B, Cu, Mo, Co, etc.); asimismo, compuestos orgánicos en pequeñas cantidades, como vitaminas, aminoácidos y reguladores de crecimiento. En los medios de cultivo, las sales que generalmente se emplean son de mayor cantidad macronutrientes (N, K, P, S, Ca, Cl, Mg) y de menor cantidad micronutrientes (Fe, Mo, B, Mn, Zn, Co, Cu) (Ward & Parrish, 1983; Tovar, 1996).

El cultivo *in vitro* del *Nostoc* del río Caño sirve para obtener cultivos primarios de multiplicación de sus colonias, ser trasladados a un lugar de cultivo tecnificado y lograr su reproducción masiva para la obtención de materia prima de biofertilizantes, alimentos, medicinas, etc. (Hao Jan Chu & Chao-Tsi Tsang, 1988; Bilger, 1994; Briones et al., 1997; Ramos et al., 2022). En las zonas rurales del Alto Perú, donde se encuentra el río Caño, se podrían establecer industrias para la producción del *Nostoc*, generando empleo local, además de alimento natural para los pobladores de la zona (Paniagua, 1986).

En este trabajo el objetivo fue evaluar el efecto del medio nutriente y la temperatura en el cultivo del *Nostoc* del río Caño, Alto Perú, Tacna, en condiciones de laboratorio, con el propósito de obtener información base, para una posible aplicación e intensificación de su cultivo en la obtención de biomasa como proteína monocelular.

Material y métodos

Colección e identificación del material biológico

El alga compatible a *Nostoc* fue colectado de los bofedales del río caño, Alto Perú, Tacna, zona alto andina, ubicada a 17° 30' de longitud Oeste y a 4500 m.s.n.m., en forma dirigida, directamente del cuerpo de agua y de las zonas superficiales, con ayuda de una espátula, y depositándola en frascos transparentes de boca ancha y en frascos con formol al 4%. Se registró las características del hábitat, forma, color, consistencia, mediciones de las colonias del alga, temperatura y pH del agua y colectó 500 ml de agua para su análisis físico-químico. Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna, Perú, para la continuación de la investigación. La identificación del alga fue realizada por la Dra. Haydeé Montoya de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los parámetros evaluados del agua fueron temperatura, pH, conductividad eléctrica, sales de nitrato, fosfato, sulfato, cloruro y carbonato (análisis realizado en el Laboratorio de la EPS-Tacna, febrero de 2002).

Obtención del cultivo puro e inóculos del alga

En el laboratorio, el alga fue lavada con chorros de agua fría para remover materiales extraños de su superficie, enjuagados con agua destilada varias veces, desinfectadas siguiendo los pasos de inmersión en Benlate fungicida (0,05 g/50 ml) por 10 min, enjuague en agua destilada (50 ml), inmersión en una mezcla de lejía (10 ml) con agua destilada (40 ml) y Tween (1 gota) por 1 min, inmersión en agua destilada estéril (50 ml), inmersión en nueva agua destilada estéril (50 ml), repetición de la inmersión en nueva agua destilada estéril (50 ml) y cortada con un bisturí en su zona externa e interna del alga para conseguir porciones de colonia que fueron colocadas y friccionadas suavemente entre las superficies de dos láminas portaobjetos estériles para obtener una masa celular que fue depositada en una luna de reloj junto con gotas de agua destilada estéril para la obtención de una suspensión, del cual se tomó un inóculo con una asa de Kohl que se sembró en zigzag sobre la superficie sólida del medio nutriente MACE (30 ml) contenido en placas Petri. La incubación se hizo colocando las placas en forma invertida dentro de una estufa provista de 2 fluorescentes de 20 watts distantes 40 cm de las placas, a temperatura de ambiente (T amb.) (16,4 - 28,6 °C), durante 45 días, entre los meses de febrero y marzo. Las colonias obtenidas fueron purificadas por cultivos sucesivos en el mismo medio de aislamiento (medio MACE) con incubación en estantes con fluorescentes de 40 watts y a una distancia de 40 cm de las placas en cultivo. El cultivo puro fue enviado a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su identificación y utilizado para obtener varias colonias separadas como cultivos stock que fueron mantenidos a 18 °C y de cada una de ellas se obtuviera por cultivo colonias con pesos similares que constituyeron los inóculos experimentales.

Cultivo para el crecimiento algal según diseño experimental

La experimentación se hizo con base en el diseño factorial experimental 2^k con pruebas centrales, entre agosto y octubre del 2002, a 18 °C, 24 °C, y a T amb. (8,6 - 24,6 °C), con los medios nutrientes MACE, BBM sin N y BBM, teniendo como variable respuesta el peso húmedo de la colonia de *Nostoc* como indicador de su crecimiento, complementario al diseño de la experimentación se hizo tres pruebas blanco en donde el medio sólido nutriente fue reemplazado por el Agar Agar (tabla 1).

Tabla 1

Diseño de la experimentación para el crecimiento del Nostoc teniendo como indicador el peso húmedo basado en tres niveles de temperatura y medios nutrientes, en condiciones de laboratorio

N° Experimento	Diseño a escala codificada			Diseño a escala natural		
	X ₁	X ₂	Y	Temperatura (°C)	Medio nutriente	Peso húmedo (g)
1	-	-		18	MACE	
2	+	-		24	MACE	
3	-	+		18	BBM sin N	
4	+	+		24	BBM sin N	
5	0	0		T amb.	BBM	
6	0	0		T amb.	BBM	
7	0	0		T amb.	BBM	
	-	0		18	Agar Agar	
P. blanco	+	0		24	Agar Agar	
	0	0		T amb.	Agar Agar	

NOTA: T amb: 8,6-24,6°C; valor mínimo: -; valor central: 0; valor máximo: +; X₁: temperatura, X₂: medio nutriente; Y: peso húmedo (g); MACE: medio de agua dulce para conservación y ensayo; BBM sin N: medio basal de Bold sin Nitrógeno; BBM: medio basal de Bold; P. blanco: prueba blanco con medio Agar Agar.

En cada experimento, con tres repeticiones cada uno, sobre el medio nutriente (30 ml) contenido en una placa Petri, se colocó un inóculo experimental de *Nostoc* que tuvo un peso de 0,0043 g. La placa se incubó durante 30 días a una temperatura según el diseño experimental, con exposición diaria de 16 horas de luz blanca, proveniente de fluorescentes de 40 watts, ubicada a una distancia de 40 cm de las placas en cultivo, y de 8 horas de oscuridad. Estos mismos pasos se hicieron para las pruebas blanco. Las colonias obtenidas fueron pesadas en una balanza analítica marca Chyo jk-180 para obtener el peso húmedo del *Nostoc* con base en el promedio de sus tres repeticiones de cada experimento o prueba.

Análisis estadístico

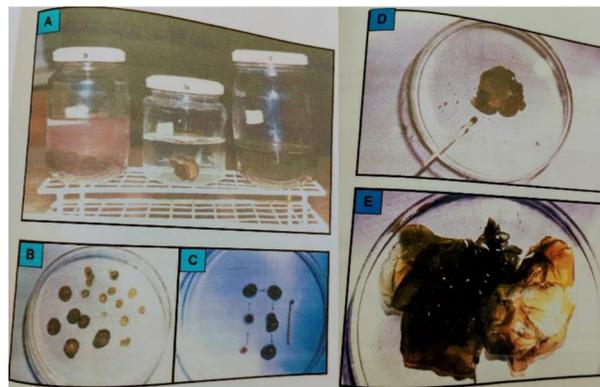
El procesamiento de los datos se hizo en el software Statgraphics plus para Windows versión 4.1 para determinar la influencia de la temperatura y del medio nutriente sobre el crecimiento del alga en relación con su peso húmedo y el respectivo análisis de varianza (ANVA) para la confiabilidad de los experimentos. La determinación del porcentaje de proteína total del *Nostoc* se hizo empleando el método de Kjeldahl, tomando muestras de las colonias cultivadas a 24°C en cada tipo de medio nutriente y en las pruebas blanco.

Resultados y discusión

El alga colectada fue identificada como *Nostoc commune*, con una morfología macroscópica (figura 1 y 2) y microscópica (figura 3) variada, similares a las reportadas por Tovar (1996), Aldave (1989) y Dodds (1995); las pequeñísimas colonias, obtenidas en su aislamiento, comparadas a las del río Caño es debido a la diferencia de los parámetros físicos, químicos y biológicos de las aguas del río (tabla 2) y del medio de aislamiento (tabla 3), las cuales determinaron un mayor tiempo de incubación (30 días) para el aislamiento del alga comparado con el tiempo empleado por Aldave (1989) que utilizó otros medios donde la incubación fue de 7-14 días.

Figura 1

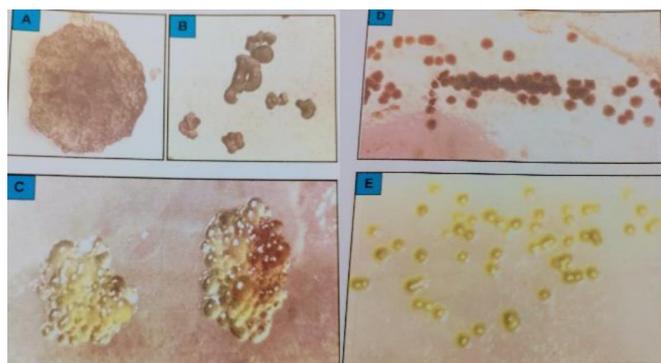
Estadíos del *N. commune* recolectado del río Caño



Nota: A) frasco "a": estado juvenil, frasco "b": estado intermedio, y frasco "c": estado adulto; B) estado juvenil a mayor aumento; C) cambios morfológicos del estado juvenil; D) estado intermedio a mayor aumento; E) estado adulto a mayor aumento

Figura 2

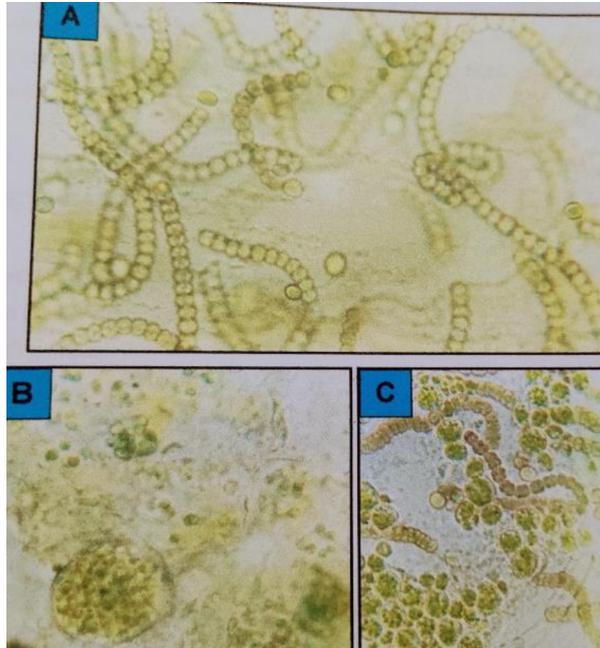
N. commune con diferentes formas en el medio MACE a 18 °C



Nota: A) colonia tumultuosa con varias colonias entrelazadas (45 X), B) colonias de diferentes formas (30 X), C) colonias formadas por aglomeración de varias (30 X), D) colonias de bordes rugosos (60 X), E) colonias de bordes lisos (60 X)

Figura 3

Fotomicrografías de cortes o squash de la colonia de *N. commune*



Nota: A) filamentos de células vegetativas y heterocistos (400 X); B) formación de colonias por enrollamiento de tricomas para su posterior división (400 X); C) engrosamiento gradual de los tricomas para su posterior división (400 X)

Tabla 2

Características físicas y químicas del agua del río Caño de donde se obtuvo las muestras de N. commune

pH	T agua (°C)	T amb. (°C)	Sales (mg/l)					C. elec. (ms)	C. sales mg/l)
			NO ⁻³	PO ₄ ⁻³	SO ₄ ⁻³	Cl ⁻¹	CO ₃ ⁻¹		
6,2	6,5-16,5	8,5-23,5	1,8	0,28	13	10,38	NE	0,23	135,22

C. eléc.: conductividad eléctrica

C. sales: concentración de sales

Tabla 3

Características físico-químicas de los medios nutrientes para el crecimiento de N. commune

Medios nutrientes	pH	NO ⁻³ mg/l	PO ₄ ⁻³ (mg/l)	SO ₄ ⁻³ (mg/l)	C. eléctric. (ms)	C. sales (mg/l)
MACE	6,2	40,28	1,89	18	0,38	223,41
BBM sin N	6,2	-	198,00	200	0,53	311,60
BBM con N	6,2	189,20	198,00	200	0,90	529,12

Los variados pesos húmedos de las colonias de *N. commune*, se deben a su adaptabilidad a los diferentes medios nutrientes, por lo que el mayor peso en el medio MACE a 24°C indica que se adapta mejor a un medio de baja concentración de sales sin nitrógeno que, según Ward y Parrish (1983), sirve para un buen desarrollo de esta alga y como medio de agua dulce para conservación y ensayo, es decir, en la que puede desarrollar y sobrevivir sin muchas exigencias nutricionales (Tovar, 1996), observable en las pruebas blanco (tabla 4).

El mayor efecto del medio nutriente sobre el peso del *Nostoc* determinó un mayor peso húmedo en el medio con

más baja concentración de sales y a cualquier valor de temperatura cuyos pesos fueron menores, a pesar de que a un aumento de esta variable hubo un incremento del peso (figura 4) (figura 5) (figura 6) (Dodds, 1995). Este efecto se relaciona con el crecimiento del alga en las aguas del río Caño, hábitat natural, que tiene una baja concentración de sales (figura 1) (tabla 2) en la que crece de manera parecida como hace en el medio nutriente MACE (figura 2) (tabla 3). En este crecimiento, los medios nutrientes y la temperatura tuvieron efecto significativo sin diferencias con un 95% de nivel de confianza y una desviación estándar de 0,0122513, según el análisis de varianza.

El contenido proteico en el *Nostoc* estuvo influenciado por el medio nutriente, similar al peso húmedo, por lo cual fue mayor en el medio nutriente MACE (tabla 3). Es probable que esto se deba a la mayor concentración de nitrógeno en el medio y a la capacidad fotosintetizadora y fijadora de nitrógeno de esta alga (Cabrera & Montecino, 1987; Aldave, 1971; Tripathi et al., 2012). Los diferentes valores proteicos obtenidos se explica por la variada composición química de los medios nutrientes, considerando que estos valores proteicos difieren a los encontrados en otros medios nutrientes por Aldave (1989), Tovar (1996) y Tripathi et al. (2012).

Tabla 4

Peso húmedo promedio de N. commune a 30 días de incubación, en tres niveles de temperatura y nutriente bajo condiciones de laboratorio, entre agosto y octubre del 2002

N.o experimento	Temperatura (°C)	Nutriente	Peso (g)
1	18	MACE	0,0484
2	24	MACE	0,0579
3	18	BBM sin N	0,0360
4	24	BBM sin N	0,0402
5	T amb.	BBM con N	0,0292
6	T amb.	BBM con N	0,0298
7	T amb.	BBM con N	0,0305
Prueba blanco	18	Agar Agar	0,0054
	24	Agar Agar	0,0078
	T amb.	Agar Agar	0,0072

NOTA: T amb: 8,6°C-24,6°C; MACE: medio de agua dulce para conservación y ensayo; BBM sin N: medio basal de Bold sin Nitrógeno; BBM: medio basal de Bold

Figura 4

Efecto del nutriente y temperatura en el peso de N. commune

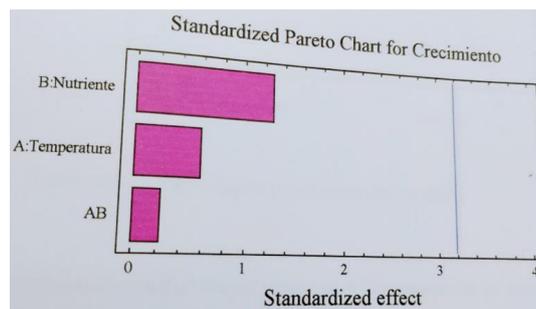


Figura 5

Efectos principales del nutriente y temperatura (°C) en el crecimiento (g) de N. commune

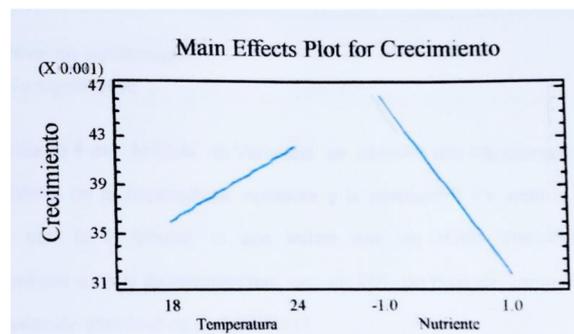


Figura 6

Influencia del nutriente y temperatura (°C) en el peso (g) de *N. commune* en el diseño de respuesta en superficie

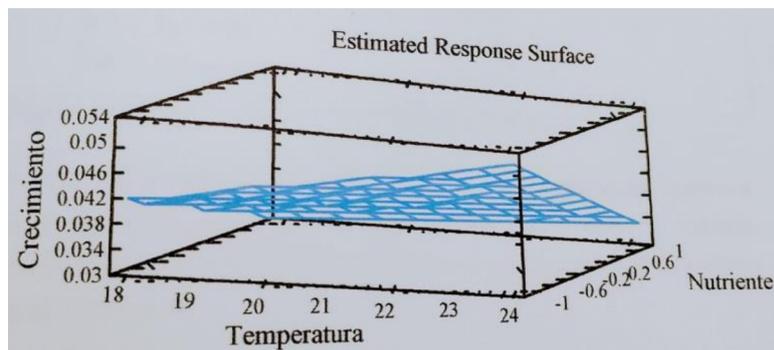


Tabla 5

Proteína total del *N. commune* crecido en tres tipos de medios nutrientes

Tipo de medio nutriente	Proteína total (materia seca) (%)
MACE	25,38
BBM sin N	21,88
BBM con N	24,50

Conclusiones

El alga recolectada de las aguas del río Caño fue identificada como *Nostoc commune*, su cultivo en el laboratorio fue mejor en el medio nutriente MACE con más baja concentración de sales y a la mayor temperatura de incubación (24 °C), donde su colonia tuvo el mayor peso húmedo (0,0579 g), con mayor porcentaje de proteínas totales en peso seco (25,38). El efecto del medio nutriente sobre el peso húmedo del alga fue mayor que la temperatura, porque el peso obtenido en el medio con menos concentración de sales fue superior al mayor peso obtenido con la temperatura en su valor más alto.

La obtención del *Nostoc* en condiciones de laboratorio abre expectativas para su aprovechamiento en beneficio de la población, con estudios complementarios podría obtenerse biomasa como recurso proteico para la alimentación, actualmente necesaria para los pobladores de la zona.

Referencias

- Abdel, M. S., Hassan, S. H., Mohammed, R. & Gamal, R. (2013). Isolation and Characterization of Antimicrobial Active Compounds from the Cyanobacterium *Nostoc commune* Vauch. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 7(1), 109-116.
- Acleto, O. (1998). *Introducción a las algas*. Edit. Escuela Nueva S. A. Lima-Perú. 383 pp.
- Acleto, O. (1973). *Las algas del Perú*. Bol. Soc. Bot. VI 1 y 2.
- Aldave, A. (1989). *Algas*. Edit. Libertad E. I. R. L. Trujillo-Perú. 309 pp.
- Aldave, A. & Aldave H. (1995). *Medio ambiente y Desarrollo sustentable*. CONCYTEC. Trujillo-Perú. 530 pp.
- Aldave, A. (1971). *Microalgas: pan del futuro*. Boletín de la Soc. Bot. La Libertad. Trujillo-Perú. 3(2), 151-157pp.
- Aldave, A. (1983). *Algas Andino Peruanas como recurso hidrobiológico alimentario*. Texto de Ficología. Univ. Nac. Trujillo. 66-72 pp.
- Alveal, K., Ferrario, M., Oliveira, E., & Sar, E. (1995). *Manual de métodos Ficológicos*. Edit. Aníbal Pinto S. A. Concepción - Chile.
- Belnap, J. (2000). Nitrogen fixation in biological soil crusts from southeast Utah, USA for *Nostoc commune*. *Biology and Fertility of Soils*. 35(2), 128-135.

- Bilger, W. (1994). Photosynthetic activity of two developmental stages of a *Nostoc* strain (Cyanobacteria) isolated from *Geosiphom pyriforme* (Mycota). Germany. *J. Pycolos* 30(2), 225-230.
- Briones, M. P., Hori, K., Martinez-Goss, M. R., Ishibashi, G., Okita, T. (1997). A comparison of physical properties, oxalate-oxalic acid soluble, substances, protein content, and in vitro protein digestibility of the blue-green alga *Nostoc commune* from the Philippines and Japan. *Plant Foods for Human Nutrition*, 50, 287-294.
- Cabrera, S., & Montecino, S. V. (1987). *Fotosíntesis y cultivo masivo de microalgas*. Edit. IFOP - Investigación pesquera. Santiago - Chile. 34, 155-163.
- Dodds, W., Gudder, D., & Mollenhauer, D. (1995). The ecology of *Nostoc*. Germany. *J. Phycology* 31(1), 2-18
- Fariás, M. E. (2020). *Microbial Ecosystems in Central Andes Extreme Environments. Biofilms, Microbial Mats, Microbialites and Endoevaporites*. LIMLA-PROIMI-CONICET. Tucumán. Argentina.
- Hao-Jan Chu & Chao-Tsi Tsang. (1988). Research and Utilization of Cyanophytes in China. *Phycological Documentation*, 9, 450-481.
- Lennihan, R., Chapin, D. M., & Dickson L. G. (1994). Nitrogen fixation and photosynthesis in high arctic forms of *Nostoc commune*. *Canadian Journal of Botany*, 72(7), 940-945. <https://doi.org/10.1139/b94-119>
- Montoya, H., Gómez, J., Jara, E., Rodríguez, S., Cruz, R. & Quispe, R. (2022). Distribución altitudinal de especies subaéreas de la microalga *Mesotaenium* (Zygnematophyceae, Streptophyta) en los Andes Tropicales del sur de Perú. *Arnaldoa* 29(3), 461-484.
- Paniagua, J. (1986). *Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas*. CISESE-ACUICULTURA. México. Informe especial N.o 02. 93 pp.
- Pei-Pei Han, Shun-Yu Yao, Rung-Ju Guo, Shi-Gang Shen, Rong-Rong Yan, Zhi-Lein Tan & Shi-Ru Jia. (2017). The relationship between monosaccharide composition of extracellular polysaccharide and activities of related enzymes in *Nostoc flagelliforme* under different culture conditions. *Carbohydrate Polymers*, 174, 111-119. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.05.093>
- Ramos, P. S., García, B. L. & De la Cruz, A. A. (2022). A nutrient medium for outdoor culture of *Nostoc commune* voucher using maligaya soil water extract with minimal phosphorus enhancement. *Rice-Based Biosystems Journal*, 11, 77-86.
- Tovar, D. (1996). *Líquenes fijadores de nitrógeno atmosférico y sus ficobiontes en cultivo*. Perú CONCYTEC-Serie Ciencias N.o 006/0969 pp.
- Tripathi, R., Dhuldhaj, U. P. & Singh, S. (2012). Effects of temperature on growth, pigment composition and protein content of an Antarctic Cyanobacterium *Nostoc commune*. *Nusantarabioscience* 4(3), 134-137.
- Uribe, E. (1997). *Tecnología de cultivos de microalgas*. UCN-JICA Coquimbo-Chile. 42 pp.
- Ward, G. S., & Parrish P. R. (1983). *Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático*. EE. UU. FAO N.o 185. 63 pp.